Journal of Horticultural Science
https://jhs.um.ac.ir

Research Article
Vol. 39, No. 1, Spring 2025, p. 93-107

The Effect of Amino Acid L-Phenylalanine, Selenium and Nitroxin Biological Fertilizer on the Physicochemical Properties of Goji Berries (*Lycium barbarum cv.* GB1)

S. Fatahi Siahkamary[1], V. Rabiei[1], M. Shoor[2*], S. Nicola[3]

1- Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan, Iran
2- Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
3- Department of Agricultural, Forest and Food Sciences, University of Torino, Italy
(*- Corresponding author's Email: shoor@um.ac.ir)

Received: 10-07-2024 Revised: 31-08-2024 Accepted: 01-09-2024 Available Online: 01-09-2024	**How to cite this article:** Fatahi Siahkamary, S., Rabiei, V., Shoor, M., & Nicola, S. (2025). The effect of amino acid L-phenylalanine, selenium and nitroxin biological fertilizer on the physicochemical properties of Goji berries. *Journal of Horticultural Science, 39*(1), 93-107. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/jhs.2024.88862.1360

Introduction
The *Lycium* genus of the Solanaceae family has excellent nutritional and medicinal value. Two species of *Lycium barbarum* L. and *Lycium chinense* Mill. It is often called wolfberry or goji berry. The use of amino acids for horticultural crops is common worldwide, and many chemicals used as biostimulants are mixtures of amino acids. The effect of amino acids on plants seems to depend on the type of amino acid supplied and the type of plant. Selenium (Se) is an important component of selenoproteins and seleno-amino acids. Therefore, it has played many roles in the growth and function of living cells and important biological functions in animals and humans. Also Se is very similar in properties to sulfur and can act as S in biochemical systems. Biological fertilizers are fertile materials that contain one or more beneficial soil organisms within a suitable carrier. Overall, these fertilizers contain different types of microorganisms that can convert nutrients from unavailable form to available form through a biological process. The application of supernitroxin fertilizer by stimulating the synthesis of plant hormones increased the growth indicators of sesame varieties.

Materials and Methods
This experiment was conducted at the Research farm University of Mashhad, during 2021 and 2022 years. In early May, goji berry seedlings were planted in the field to check the effect of the L-phenylalanine (Phe), sodium selenate (Se), and nitroxine were applied before harvesting and foliar spraying on the goji berry plant during the growth stages. To conduct experiment, two-year-old seedlings of Goji berry cultivar GB1 were obtained from Mashhad Seedling Company located in Razavi Khorasan province, and after the seedlings were transferred to ground and established, initial foliar spraying was done. In order to evaluate the effect of L-phenylalanine, selenium, and nitroxine treatments, experiment were conducted as a randomized complete block design in 5 replications which factors include the amino acid L-phenylalanine (Phe: 0.5, 1, and 1.5 mM), sodium selenate (Se: 0.25, 0.5, and 1 mg.L^{-1}) and nitroxin biological fertilizer (170, 330, and 500 µl.L^{-1}) at three levels and distilled water was applied as a control. One pot was considered for each repetition and a total of 10 pots were considered along with the control. Plants were sprayed every 15 days after establishment. After the three stages of foliar spraying, the content of phenol and flavonoid content and antioxidant activity, PAL and anthocyanin were measured.

Results and Discussion
The results showed that the treatments used in this experiment had a significant effect on the physiological

https://doi.org/10.22067/jhs.2024.88862.1360

and chemical characteristics of the goji berry plant. The results showed that the highest amount of titratable acidity (0.896%) was obtained in samples treated with nitroxine at a concentration of 333 microliters. The highest amount (18.56 $mg.g^{-1}$) of this index was obtained in fruits treated with phenylalanine at a concentration of 1.5 mM. The highest amount of this index was obtained in the fruits treated with phenylalanine at a concentration of 1 mM, which was 61.98% higher than the amount of flavonoid recorded in goji berries under control conditions. Also, the results showed that despite the decrease in the activity of PAL enzyme during the increase of selenium concentration, the activity of this enzyme was 13.66% higher than the activity of PAL enzyme under the condition of using selenium at a concentration of 1 mg/liter. The increase in the functioning of the antioxidant system is determined by the total antioxidant, which is controlled by the content of low-molecular components and the activity of antioxidant enzymes. Compounds such as ascorbic acid, glutathione, tocopherol, carotenoids, anthocyanins, endogenous metal chelators, TPC, TFC and alkaloids are low molecular weight antioxidants. Also nitroxin, supernitroplus, phosphate and mycorrhizal fertilizers. Nitroxin binds N in the atmosphere and balances the absorption of nutrient element in the plant. Nitroxin is responsible for the secretion of amino acids, antibiotics, hydrogen cyanide and siderophores, which promote the growth and development of plant roots and shoots, protect the roots from pathogens, thereby increasing yield. A sufficient supply of phenylalanine through the use of exogenous Phe or endogenous Phe provided by the shikimic acid pathway may be required to stimulate the activity of the phenylpropanoid pathway, as shown by the high PAL activity responsible for the accumulation of phenols, flavocyanins and anthocyanins. This leads to the need for ROS accumulation. Anthocyanins are groups of flavonoids found in vacuoles epidermal and mesophyll cells of plants. Anthocyanins can protect chlorophyll from light oxidation and, compared to other components, is a better indicator of plant oxidative stress caused by external factors that accumulate in plants.

Conclusions

The present study was conducted with the aim of studying the effect of L-phenylalanine, selenium and nitroxin biofertilizer on improving the vegetative growth, yield and secondary metabolites of gojiberry during two cropping years. To conduct the experiment, two-year-old seedlings of Goji berry variety GB1 were obtained from Mashhad Seedling Company located in Razavi Khorasan province. The results demonstrated that the application of L-phenylalanine amino acid, selenium, and nitroxin biofertilizer significantly influenced the traits studied during the experiment. Specifically, nitroxin at a concentration of 166 microliters increased the amount of soluble solids, while at a concentration of 333 microliters, it elevated titratable acidity compared to the control samples. The highest PAL enzyme activity was observed with phenylalanine at a concentration of 1.5 mM, showing a 52.17% increase compared to the PAL enzyme activity under control conditions.

Keywords: Antioxidant enzymes, Phenol content Tiratable acidity, Total soluble solids

نشریه علوم باغبانی
https://jhs.um.ac.ir

مقاله پژوهشی

جلد ۳۹، شماره ۱، بهار ۱٤۰٤، ص. ۱۰۷-۹۳

تأثیر تیمار اسید آمینه L- فنیل آلانین، سلنیوم و کود بیولوژیک نیتروکسین روی برخی از ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی میوه‌های گوجی بری (*Lycium barbarum cv.* GB1)

سعید فتاحی سیاه کمری[۱]- ولی ربیعی[۱]- محمود شور[۲]*- سیلوانا نیکولا[۳]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۴/۲۰
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۶/۱۱

چکیده

گوجی‌بری (*Lycium barbarum cv.* GB1) می‌تواند منبع آنتی اکسیدان‌های طبیعی برای تولید غذای انسان باشد. به‌منظور بررسی اثر تیمارهای ال- فنیل آلانین، سلنیوم و نیتروکسین، آزمایشی در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار انجام شد که فاکتورهای آن شامل اسید آمینه L- فنیل آلانین (۰/۵، ۱ و ۱/۵ میلی‌مولار) بود. سدیم سلنات (۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم در لیتر) و کود بیولوژیک نیتروکسین (۱۶۶، ۳۳۳ و ۵۰۰ میکرولیتر در لیتر) در سه سطح و آب مقطر به‌عنوان شاهد استفاده شد. در پایان آزمایش، صفاتی مانند مواد جامد محلول، اسید قابل تیتراسیون، محتوای فنول کل، فلاونوئید و فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیاز مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که تیمارهای مورد استفاده در این آزمایش تأثیر معنی‌داری بر ویژگی‌های فیزیولوژیکی و شیمیایی گیاه گوجی بری داشتند. نتایج نشان داد که بیشترین میزان اسید قابل تیتراسیون (۰/۸۹۶ درصد) در نمونه‌های تیمارشده با نیتروکسین در غلظت ۳۳۳ میکرولیتر به‌دست آمد. بیشترین میزان (۱۸/۵۶ میلی‌گرم در گرم) این شاخص در میوه‌های تیمارشده با فنیل‌آلانین در غلظت ۱/۵ میلی‌مولار به‌دست آمد. بیشترین مقدار این شاخص در میوه‌های تحت تیمار فنیل‌آلانین در غلظت ۱میلی‌مولار به‌دست آمد که این شاخص ۶۱/۹۸ درصد بیشتر از میزان فلاونوئید ثبت‌شده در میوه‌های گوجی‌بری در شرایط شاهد به‌دست آمد. همچنین نتایج نشان داد که با وجود کاهش فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز طی افزایش غلظت سلنیوم، فعالیت این آنزیم طی شرایط استفاده از سلنیوم در غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر ۱۳/۶۶ درصد بیشتر از فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز در شرایط شاهد بود. با توجه به نتایج حاصل از پژوهش حاضر، استفاده از نیتروکسین در غلظت ۳۳۳ میکرولیتر و فنیل آلانین در غلظت ۱/۵ میلی‌مولار برای افزایش عملکرد و خصوصیات فیزیکوشیمیایی، در جهت ارتقاء کشاورزی ارگانیک و پایدار می‌تواند قابل توصیه باشد.

واژه‌های کلیدی: اسید قابل تیراسیون، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، محتوای فنلی، مواد جامد محلول

مقدمه

گوجی‌بری با نام علمی *Lycium barbarum* از خانواده Solanaceae می‌باشد. این گیاه بومی جنوب شرقی اروپا و آسیا است و در طب سنتی چینی به‌خوبی شناخته شده است (Shah *et al*., 2019) و در مناطق معتدل تا نیمه‌گرمسیری استرالیا، اوراسیا، آفریقای جنوبی، آمریکای شمالی و آمریکای جنوبی، حدود ۷۰ نوع مختلف *لیسیوم* قابل پرورش است (Fukuda *et al*., 2001). دارای برگ‌های بیضی‌شکل با نوک نیزه‌ای شکل خمیده است. برگ‌ها و شاخساره‌های آن به‌صورت دسته‌هایی مخالف یکدیگر (متقابل) روی شاخه‌ها قرار گرفته‌اند. طول برگ‌های آن هفت سانتی‌متر و عرض آن ۳/۵ سانتی‌متر است (Oğuz *et al*., 2021). دارای میوه‌ای دوکی یا مستطیلی شکل با طول ۶-۲۰ میلی‌متر و قطر ۳-۱۰ میلی‌متر است. با رنگ نارنجی یا قرمز تیره که پوست آن دارای ظاهری منقبض است. پالپ گوشتی و نرم با طعمی گس و شیرین است (Gao *et al*., 2017). گوجی‌بری‌ها را می‌توان با توجه به مرحله رسیدن، ابعاد، وزن، رنگ، سفتی، محتوای مواد جامد محلول، pH و اسیدیته قابل تیتر شدن به دسته‌های مختلفی تقسیم کرد. میوه بالغ بیضی‌شکل و شبیه به یک گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum*) کوچک بالغ و حاوی ۲۰ تا ۴۰ دانه ریز در هر میوه است (Fatchurrahman *et al*.,

۱ - گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران
۲- گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
۳- گروه کشاورزی، جنگل و علوم غذایی، دانشگاه تورینو، ایتالیا
(*- نویسنده مسئول: Email: shoor@um.ac.ir)
https://doi.org/10.22067/jhs.2024.88862.1360

2022). گوجی‌بری گیاهی بسیار مقاوم در برابر شرایط آب‌وهوایی محیطی مانند دمای پایین و خشکی است. همچنین برای کشت در شرایط نسبتاً مرطوب مناسب است. این گیاه پس از سازگاری سیستم ریشه با خاک، در شرایط خشک نیز می‌تواند به‌راحتی رشد کند. این گیاهان عاشق نور خورشید هستند و می‌توانند دمای ۳۹+ درجه سانتی‌گراد را در تابستان و ۲۶− درجه سانتی‌گراد را در زمستان تحمل کنند. همچنین می‌توان آن را بین ۸۰۰ تا ۲۰۰۰ متر از سطح دریا کشت کرد و ازآنجایی‌که گیاهانی برگ‌ریز هستند و در زمستان برگ‌های خود را می‌ریزند، نیاز سرمایی آن‌ها ۱۶۴۰ ساعت است (Oğuz *et al*., 2021). علاوه‌براین، گوجی بری دارای ارزش زیادی در زنبورداری به‌عنوان یک گونه گرده‌ساز است و دارای یک دوره گل‌دهی طولانی از اواسط اردیبهشت تا مهر ماه می‌باشد (Wang YaLi *et al*., 2011). گیاهان دوپایه‌ای هستند که گیاهان نر عقیم (یعنی ماده) و دوجنسی تولید می‌کنند. میوه‌ها منحصراً توسط نمونه‌های ماده تولید می‌شود، درحالی‌که گیاهان دوجنسی در حقیقت به‌عنوان گیاهان نر عمل می‌کنند (Konarska, 2018). اطلاعات محدودی در مورد روش‌های تولید گوجی‌بری وجود دارد. بااین‌حال، نیازی به هرس شدید ندارد. این گیاه میوه‌ها را روی شاخه‌های نامشخص تولید می‌کند. در تولیدات تجاری، گیاه به یک شاخه اصلی محدود شده و اجازه می‌دهند تا ارتفاع تقریباً ۱۸۰ سانتی‌متر رشد کند. اگر گیاه گوجی‌بری از بذر رشد کند، معمولاً تا سال دوم رشد میوه نمی‌دهد و در هر سال نیز میوه روی شاخه جدید تولید می‌شود (Lee Carroll, 2018).

این گیاه دارای ترکیباتی همچون اسانس‌ها، ویتامین‌ها (ویتامین C، A، B1، B2، B6، E) و اسیدهای آمینه (۱۸ اسید آمینه مختلف از جمله ضروری‌ها)، پلی‌ساکاریدها، مواد معدنی (آهن، مس، روی، کلسیم، پتاسیم، فسفر و سلنیوم)، کاروتنوئیدها و فلاونوئیدها می‌باشد (Benlloch *et al*., 2015). مواد مغذی موجود در گوجی‌بری شامل ۴۶ درصد کربوهیدرات، ۱۶ درصد فیبر، ۱۳ درصد پروتئین و ۱/۵ درصد چربی است. بنابراین، گوجی‌بری منبع عالی از درشت مغذی‌ها و ریزمغذی‌هایی است که شامل مواد معدنی و ویتامین‌ها هستند. مطالعاتی وجود دارد که وجود ریبوفلاوین، تیامین، اسید نیکوتینیک و مواد معدنی مانند مس، منگنز، منیزیم و سلنیوم را در گوجی‌بری گزارش کردند (Luo *et al*., 2004). از دیگر اجزاء فعال بیولوژیکی گوجی‌بری پلی‌ساکاریدها، کاروتنوئیدها و فنولیک‌ها هستند (Wang YaLi *et al*., 2011). مهم‌ترین گروه از ترکیبات موجود در گوجی‌بری، پلی‌ساکاریدها هستند که با سلامتی مرتبط می‌باشند. پلی‌ساکاریدها پنج تا هشت درصد از میوه‌های خشک را تشکیل می‌دهند و بیشتر به‌شکل محلول در آب می‌باشند (Kulczyński & Gramza-Michałowska, 2016).

اسیدآمینه فنیل‌آلانین پیش‌ماده مسیر فنیل پروپانوئید است که منجر به تشکیل اسید فنولیک، فلاونوئیدها و سایر ترکیبات فنولی می‌شود. فنیل‌آلانین سوبسترا آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیاز (PAL) است که باعث تبدیل فنیل‌آلانین به اسید سینامیک به‌عنوان اولین مرحله از بیوسنتز ترکیبات فنولی می‌شود (Kubota *et al*., 2001). فنیل‌آلانین با نام علمی 2-Amino- 3-phenylpropanoic acid یکی از ۲۰ اسید آمینه اصلی و یک آلفا آمینو اسید با فرمول شیمیایی $C_9N_{11}NO_2$ می‌باشد (Portu *et al*., 2015). این اسید آمینه می‌تواند به‌عنوان یک گروه بنزیل جایگزین گروه متیل‌آلانین یا یک گروه فنیل در جای هیدروژن آلانین باشد. اسید آمینه آروماتیک فنیل‌آلانین در گیاهان، پیش‌ماده‌ای برای سنتز طیف گسترده‌ای از متابولیت‌های ثانویه مهم گیاهان از جمله ترکیبات فنولی می‌باشد، همچنین به‌عنوان یک مولکول نیتروژن‌دار برای سنتز پروتئین‌ها نیز به‌کار می‌رود و پیش‌ماده سنتز ترکیبات فنولی از طریق مسیر بیوسنتز فنیل‌پروپانوئید می‌باشد (Santamaría *et al*., 2015).

سلنیوم از عناصر کمیاب و شبه‌فلزی است که به‌دلیل نزدیکی با گوگرد، خواصی مشابهی با این عنصر دارد (White *et al*., 2004). همچنین یکی از عناصر ضروری کم‌مصرف می‌باشد که در بسیاری از فرآیندهای بیولوژیکی نقشی حیاتی دارد، سلنیوم نقش حیاتی در متابولیسم انسان‌ها، حیوانات و بسیاری از پروکاریوت‌ها و همچنین برخی جلبک‌ها دارد (Pilon-Smits, 2019; Yadav *et al*., 2005)و با شرکت در ساختار سلنوآنزیم‌های مختلف منجر به کاهش صدمات ناشی از رادیکال‌های آزاد می‌شود. سلنیوم مثل گوگرد در طبیعت در حالت اکسیداسیون به‌شکل سلنید (Se^{2-})، سلنیوم (Se)، سلنیت (Se^{+4}) و سلنات (Se^{+6}) وجود دارد (Yadav *et al*., 2005). سلنات (SeO_4) و سلنیت (SeO_3) دو فرم قابل جذب سلنیوم برای گیاهان می‌باشند (Navarro-Alarcon & Cabrera-Vique, 2008).

امروزه کاربرد کودهای زیستی و باکتری‌های خاک‌زیست در تغذیه خاک و گیاهان زراعی در نظام‌های کشاورزی پایدار در سراسر جهان در حال افزایش است. این باکتری‌ها روی ریشه‌های گیاه مستقر و سبب افزایش رشد و عملکرد گیاهان می‌گردند (Zarea *et al*., 2009).

نیتروکسین از انواع کودهای زیستی می‌باشد که شامل باکتری‌هایی از جنس *ازتوباکتر* (*Azotobacter* sp.) و *آزوسپیریلوم* (*Azospirillum* sp.) است. این دو باکتری جزو ریزجانداران تثبیت‌کننده نیتروژن مولکولی هستند که در ارتباط با ریزوسفر گیاه و همچنین همیاری با ریشه گیاه، اثرهای مفیدی بر رشد گیاهان دارند.

این باکتری‌های افزاینده رشد، گیاه را از طریق تأمین عناصر غذایی، مهار زیستی، تولید مواد شبه هورمونی و کاهش سطح اتیلن، در شرایط تنش‌زا یاری می‌کنند (Zarea *et al*., 2009). *ازتوباکتر* و *آزوسپیریلوم* مواد مختلفی مانند ویتامین B، اسید نیکوتینیک، اسید پنتوتریک، بیوتین، اکسین، جیبرلین و غیره را در محیط ریشه ایجاد و انتشار می‌دهند، بنابراین نقش مهمی در افزایش جذب ریشه دارند (Allahdadi *et al*., 2020; Kader *et al*., 2002). کود زیستی نیتروکسین با داشتن باکتری‌های *ازتوباکتر* و *آزوسپریلیوم* علاوه‌بر افزایش فراهمی زیستی عناصر معدنی خاک از طریق تثبیت زیستی نیتروژن، محلول کردن فسفر و پتاسیم و مهار عوامل بیماری‌زا و با تولید مواد و هورمون‌های تنظیم‌کننده رشد گیاه، عملکرد گیاهان زراعی را تحت تأثیر قرار می‌دهند (Feiziasl *et al*., 2009).

امروزه استفاده از کودهای بیولوژیک به‌ویژه در خاک‌های فقیر از نظر عناصر غذایی، یک ضرورت اجتناب‌ناپذیر برای حفظ کیفیت خاک می‌باشد (Vessey, 2003). نیتروکسین یکی از کودهای بیولوژیکی است که دارای ریزجانداران زیادی بوده و با توجه به اینکه توانایی تثبیت نیتروژن اتمسفر را در قسمت ریشه، و همچنین تولید و ترشح برخی از مواد فعال بیولوژیکی مانند ویتامین‌های B، اسید نیکوتینیک، اسید پانتوتنیک، اکسین‌ها و جیبرلین‌ها را دارد، بنابراین باعث بهبود رشد ریشه و در نتیجه، افزایش رشد ریشه می‌شود که منجر به افزایش جذب آب، عناصر غذایی و در نهایت عملکرد گیاه می‌گردد (Dahham, 2021). اثر مصرف کود نیتروکسین بر عملکرد و اجزاء عملکردی گلرنگ (*Carthamus tinctorius*) با استفاده از پوشش بالا و روش تیمار بذر نشان داد که بسیاری از اجزاء عملکردی نسبت به شاهد افزایش یافته است (Moghimi & Yousefi Rad, 2013). همچنین افزایش رشد و عملکرد در خار مریم (*Silybum marianum*) (Mohammadpour Vashvaei *et al*., 2017) با کاربرد کود زیستی نیتروکسین تأیید شده است. داهام (Dahham, 2021) نیز در نتایج خود بیان کرد که در جمعیت کرفس (*Apium graveolens*) عراق با استفاده از نیتروکسین در غلظت ۱۵ میلی‌مولار و در جمعیت کرفس ایرانی، استفاده از غلظت ۳۰ میلی‌مولار نیتروکسین بیشترین تأثیر را روی صفات رشدی مانند سطح برگ، ارتفاع، وزن خشک گیاه و محتوای کلروفیل برگ گیاهان داشت.

امروزه کاربرد راهکارهای جدید و مواد مؤثر برای افزایش متابولیت‌های ثانویه و ترکیبات ارزشمند گیاهان به‌صورت محلول‌پاشی، کوددهی و سایر روش‌های مناسب انجام می‌شود. از جمله این راهکارها، استفاده از اسیدهای آمینه، سلنیوم و کودهای زیستی همچون نیتروکسین است که نقش مستقیمی در افزایش فعالیت‌های آنزیمی دارند و می‌توانند بر فعالیت‌های فیزیولوژیکی طی رشدونمو گیاه و کیفیت آن تأثیر گذاشته و باعث افزایش عملکرد شوند.

با توجه به اینکه گوجی‌بری یکی از رایج‌ترین گونه‌های خانواده سولاناسه است (Donno *et al*., 2015; Fatchurrahman *et al*., 2022)، که به‌طور سنتی در چین، تبت و سایر بخش‌های آسیا رشد می‌کنند (Bora *et al*., 2019). چین با تولید سالانه ۲۵۰۰۰ تا ۳۰۰۰۰ تن میوه خشک در دنیا، تأمین‌کننده اصلی گوجی‌بری در سراسر جهان است (Shah *et al*., 2019). آسیا بیشترین تولید را دارد و پس از آن آفریقا، آمریکا، اقیانوسیه و اروپا قرار دارند (FAOSTAT). با توجه به گزارش‌های تأثیر مثبت آن بر بهبود سلامت، تولید میوه‌های جدید در ۲۰ سال گذشته در سراسر جهان رو به افزایش بوده است. یکی از این موارد گوجی‌بری است که تولید آن در دهه‌های گذشته افزایش یافته است (Kafkaletou *et al*., 2018)، به‌ویژه در اروپا (ایتالیا، رومانی، بلغارستان، پرتغال، یونان و صربستان)، آمریکای شمالی و استرالیا. در حال حاضر، رومانی دارای بزرگ‌ترین سطح زیر کشت گوجی بری در اتحادیه اروپا است (Mocan *et al*., 2018; Vidović *et al*., 2022). گوجی بری در چند سال اخیر در ایران کشت شده است، هم‌اکنون به‌صورت تجاری در استان‌های، کرمانشاه، آذربایجان غربی و خراسان جنوبی کشت می‌شود. همچنین رقم GB1 وارداتی این گیاه بوده و در چند سال اخیر وارد کشور شده است و نسبت به اقلیم اکثر مناطق سازگار است و در حال حاضر روی کشت و توسعه آن تمرکز شده است. با توجه به ارزش اقتصادی بالای گوجی‌بری نسبت به گیاهان مشابه مانند زغال اخته و تمشک که به‌صورت بومی در ایران وجود دارد، پژوهش حاضر به‌منظور بررسی امکان کشت این گیاه در استان خراسان و بهینه‌سازی شرایط کشت گیاه انجام شده است.

مواد و روش‌ها

زمان و محل اجرای پژوهش

این پژوهش طی دو سال متوالی ۱۴۰۰ و ۱۴۰۱ در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد (با آب‌وهوای معتدل و متمایل به سرد و خشک و تابستان‌های گرم و خشک و زمستان‌های سرد و مرطوب؛ بیشینه درجه حرارت در تابستان‌ها ۴۳ و کمینه آن در زمستان‌ها ۲۲- درجه سانتی‌گراد) واقع در ۱۰ کیلومتری جنوب شرقی شهر مشهد با عرض جغرافیایی ۳۶ درجه و ۱۵ دقیقه شمالی و طول جغرافیایی ۵۶ درجه و ۲۸ دقیقه شرقی و ارتفاع ۹۸۵ متر از سطح دریا انجام شد.

طرح آزمایشی و روش اجرای پژوهش

این پژوهش به‌صورت طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل اسید آمینه L- فنیل آلانین (Merck KGaA, Darmstadt, Germany) (۰/۵، ۱ و ۱/۵ میلی‌مولار) بود. سدیم سلنات (Sigma Aldrich, China) (۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم در لیتر) و کود بیولوژیک نیتروکسین (شرکت مهر آسیا، ایران) (۱۷۰، ۳۳۰ و ۵۰۰ میکرولیتر در لیتر) در سه سطح و آب مقطر به‌عنوان شاهد استفاده شد. برای هر تکرار، یک ردیف (بلوک) در نظر گرفته شد و در مجموع با شاهد ۱۰ تیمار در نظر گرفته شد. گیاهان پس از استقرار هر ۱۵ روز یک‌بار و در سه مرحله محلول‌پاشی شدند.

عملیات زراعی و نحوه اعمال تیمارها

برای انجام آزمایش در طی دو سال متوالی ۱۴۰۱- ۱۴۰۰، در سال ۱۴۰۰ نهال‌های دوساله گوجی‌بری رقم GB1 از شرکت نهال مشهد واقع در استان خراسان رضوی تهیه گردید و با فاصله بین ردیف ۱۵۰ سانتی‌متر و فاصله بین نهال‌ها ۱۵۰ سانتی‌متر در اوایل اردیبهشت ماه در مزرعه کاشته شدند. آبیاری گیاهان در طی دو سال بررسی، با روش آبیاری قطره‌ای نواری و با توجه به شرایط آب‌وهوایی منطقه با دور آبیاری دو روز یک‌بار انجام شد. در طول فصل رشد، عمل وجین علف‌های هرز صورت گرفت. در سال دوم، گل‌دهی گوجی‌بری از اردیبهشت شروع و برداشت میوه‌ها از تیرماه شروع و تا پایان مهرماه ادامه داشت. برداشت میوه‌ها زمانی شروع شد که میوه‌ها در مرحله قرمز کامل و به‌صورت نرم و شیرین بودند.

در مرحله آماده‌سازی خاک، کاربرد تیمارها نیز براساس میزان نیتروژن خاک و با توجه به نیاز کودی گوجی‌بری توصیه کودی بعد از آزمایش خاک بود (جدول ۱) از کودهای آلی ورمی کمپوست در غلظت ۷/۸ تن در هکتار برای تقویت خاک استفاده شد. پس از اطمینان از استقرار اولیه گیاهان، اولین محلول‌پاشی برگی با اسید آمینه فنیل‌آلانین، سلنیوم و نیتروکسین صورت گرفت و محلول‌پاشی‌های بعدی در دو مرحله با فاصله ۱۵ روز یک‌بار در طول دوره رشد گیاه انجام گرفت. زمان محلول‌پاشی برای تمام تیمارها یکسان بود و برای محلول‌پاشی شاهد نیز از آب مقطر استفاده شد. نتایج حاصل از تجزیه خاک در جدول ۱ خلاصه شده است.

جدول ۱- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک محل اجرای آزمایش

Table 1- The physical and chemical properties on the site of experimental field

پتاسیم (میلی‌گرم بر کیلوگرم) K ($mg.kg^{-1}$)	فسفر (میلی‌گرم بر کیلوگرم) P ($mg.kg^{-1}$)	نیتروژن (میلی‌گرم بر کیلوگرم) N ($mg.kg^{-1}$)	هدایت الکتریکی (دسی‌زیمنس بر متر) EC ($dS.m^{-1}$)	اسیدیته pH	لومی Loam (%)	رس Clay (%)	شن Sand (%)	ساختار خاک Soil texture	عمق Depth (cm)
625.1	60.6	610	1.3	7.5	27	33	40	لومی-شنی Sandy loam	0-30

صفات ارزیابی‌شده

مواد جامد محلول کل

برای اندازه‌گیری مواد جامد محلول کل از دستگاه رفراکتومتر دستی (Refractometer) (مدل K-0032 ساخت ژاپن) استفاده شد و مقدار مواد جامد محلول برحسب درجه بریکس ثبت شد (Heydarnazhad *et al*., 2019).

اسید قابل تیتراسیون

برای اندازه‌گیری اسید قابل تیتراسیون از روش تیتراسیون با سود ۰/۱ نرمال استفاده شد و اسید قابل تیتراسیون برحسب گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر اسید سیتریک بیان شد. برای این منظور، ۱۰ میلی‌لیتر آب‌میوه با ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط و سپس تیتر شد و با استفاده از مادله ۱، میزان اسید قابل تیتراسیون به‌دست آمد (AyalaAyala-Zavala *et al*., 2004).

$$A=(S\times N\times E/C)\times 100 \quad (۱)$$

که در آن، A: مقدار اسیدهای آلی موجود در عصاره میوه (گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر)، S: مقدار NaOH مصرف‌شده (میلی‌لیتر)، N: نرمالیته NaOH، F: فاکتور یا ضریب نرمال که برای NaOH برابر با یک است، C: مقدار عصاره میوه (میلی‌لیتر) و E: اکی والان اسید مورد نظر (اسید سیتریک) می‌باشد.

ویتامین ث

به‌منظور اندازه‌گیری میزان ویتامین ث از روش تیتراسیون با ید در یدور پتاسیم انجام شد. پایان تیتراسیون زمانی بود که رنگ عصاره میوه‌ها آبی تیره شده و این رنگ چند ثانیه پایدار ماند (Arya *et al*., 2000).

عصاره‌گیری جهت تعیین میزان فنول، فلاونوئید و فعالیت آنتی‌اکسیدانی

برای عصاره‌گیری ابتدا یک گرم از بافت گوشتی میوه با هشت میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد همگن شد. سپس محلول به‌دست‌آمده با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه به‌مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید. بعد از اتمام سانتریفیوژ، عصاره رویی جدا شده و برای سنجش فنول کل، فلاونوئید کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل استفاده شد.

فنول کل

محتوای فنول کل (TPC) با استفاده از معرف فولین سیوکالتیو (Folin Ciocalteau) استفاده شد. برای این منظور، ۰/۱ میلی‌لیتر از نمونه‌های رقیق‌شده همراه با دو میلی‌لیتر Na_2CO_3 دو درصد در لوله آزمایش ریخته شد و به‌مدت دو دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد. سپس ۰/۱ میلی‌لیتر از واکنشگر فولین سیکالتیو ۵۰ درصد به آن اضافه شد. مخلوط واکنش به‌مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق و در تاریکی نگهداری و سپس میزان جذب آن در طول موج ۷۲۰ نانومتر خوانده شد. برای به‌دست آوردن منحنی استاندارد از اسید گالیک استفاده گردید (Singleton & Rossi, 1965). نتایج براساس میلی‌گرم در گرم وزن خشک بر حسب اسید گالیک محاسبه شد.

فلاونوئید کل

میزان فلاونوئید کل (TFC) عصاره‌ها با روش (Kaijv *et al.*, 2006) اندازه‌گیری شد. برای تهیه عصاره، یک گرم از بافت میوه با استفاده از متانول ۸۰ درصد ساییده و به حجم هشت میلی‌لیتر رسانده شد. سپس به ۲۵۰ میکرولیتر از نمونه با رقت مناسب، ۷۵ میکرولیتر $NaNO_2$ (۵ درصد) و ۱۵۰ میکرولیتر $AlCl_3$ (۱۰ درصد) و ۵۰۰ میکرولیتر NaOH یک مولار اضافه گردید و با افزودن آب مقطر به حجم ۲/۵ میلی‌لیتر رسانده شد. جذب محلول پس از پنج دقیقه در طول موج ۵۰۷ نانومتر خوانده شد. نتایج براساس میلی‌گرم در گرم وزن خشک بر حسب کوئرستین محاسبه شد.

فعالیت آنتی‌اکسیدانی

برای اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی از رادیکال آزاد DPPH (2,2-Dphenyl- Picryl-Hydrazyl) طبق روش نشان داده شده توسط سانچز- مورنو و همکاران (Sánchez-Moreno *et al.*, 1999) به همراه تغییراتی توضیح داده شد. ابتدا از عصاره‌های گیاهی ۱۰۰ میکرولیتر و شاهد (متانول در محل عصاره) به ۱۰۰ میکرولیتر محلول DPPH آماده‌شده (۰/۲ میلی‌مولار) در متانول اضافه شد. فعالیت مهار رادیکال DPPH با اندازه‌گیری جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر پس از ۱۵ دقیقه تعیین شد و نتایج به‌دست آمده به‌صورت درصد بیان شد.

فعالیت آنتی‌اکسیدانی = (۲)

100 × جذب DPPH /جذب نمونه – جذب DPPH

آنتوسیانین

برای تعیین غلظت آنتوسیانین، ۰/۲۵ گرم برگ تازه جمع‌آوری شد و در لوله‌های سانتریفیوژ شیشه‌ای ۱۵ میلی‌لیتری حاوی سه میلی‌لیتر متانول اسیدی‌شده (methanol:HCl, 99:1, v:v) استخراج و به‌مدت یک شب در تاریکی نگهداری شدند. نمونه‌ها به حجم ۱۰ میلی‌لیتر رسیده و جذب در طول موج ۵۵۰ نانومتر تعیین شد. غلظت آنتوسیانین با استفاده از ضریب خاموشی ($33000\ mol^{-1}.cm^{-1}$) محاسبه شد (Krizek *et al.*, 1998). نتایج براساس میلی‌گرم در گرم وزن‌تر محاسبه شد.

فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیاز (PAL)

برای استخراج آنزیم PAL، ابتدا یک گرم از بافت برگ با پنج میلی‌لیتر بافر سدیم بورات ۱۰۰ میلی‌مولار (pH= ۸/۸) شامل بتا- مرکاپتواتانول پنج میلی‌مولار، یک میلی‌مولار EDTA و PVP ۰/۱ درصد با استفاده از هاون چینی و نیتروژن مایع هموژن و سپس در ۱۴۰۰۰ دور در دقیقه در دمای چهار درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید. جهت انجام واکنش ۰/۵ میلی‌لیتر از روشناور به همراه دو میلی‌لیتر بافر سدیم بورات ۵۰ میلی‌مولار با pH= ۶ و ۰/۵ میلی‌لیتر فنیل‌آلانین ۲۰ میلی‌مولار در یک لوله آزمایش ریخته شده و به‌مدت یک ساعت در حمام آب گرم ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. سپس واکنش با ۰/۱ میلی‌لیتر اسید کلریدریک شش نرمال متوقف شد. فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیاز با تولید سینامیک اسید تعیین گردید. در نهایت میزان جذب در ۲۹۰ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر (RS232) SAFAS MONACO ثبت شد و داده‌ها براساس $U.mg^{-1}$ protein بیان گردید (Kovacs *et al*., 2014).

طرح آزمایشی و تجزیه داده‌ها

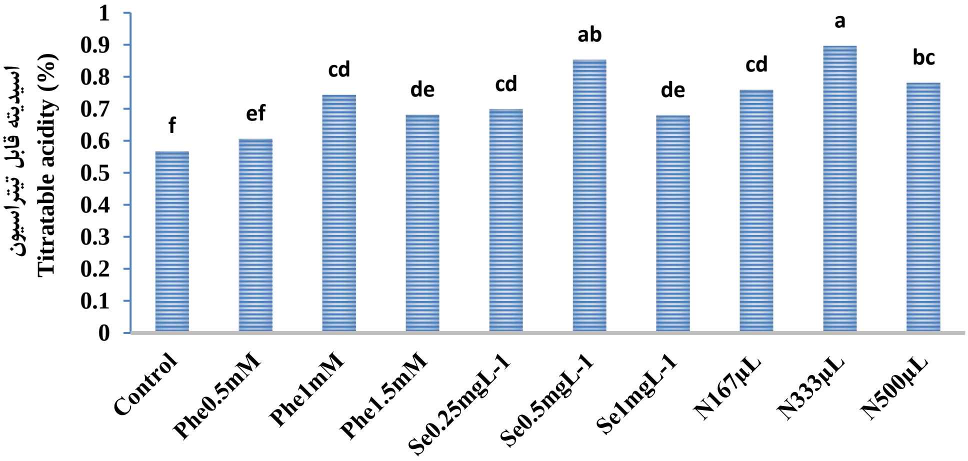
این آزمایش به‌صورت طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار انجام شد. نمونه‌های تیمارشده با اسید آمینه فنیل‌آلانین، سلنیوم و کود زیستی نیتروکسین در این آزمایش شامل ۱۰ تیمار در سه تکرار و در مجموع ۳۰ واحد آزمایشی (در هر واحد آزمایشی یک نهال) و شیوه نمونه‌گیری به‌صورت تصادفی در قالب سه تکرار اختصاص‌یافته به هر یک از تیمارها می‌باشد. تجزیه داده‌های حاصل با استفاده از نرم‌افزار

SAS V9 و مقایسه میانگین داده‌ها از طریق آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح یک و پنج درصد مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

نتایج

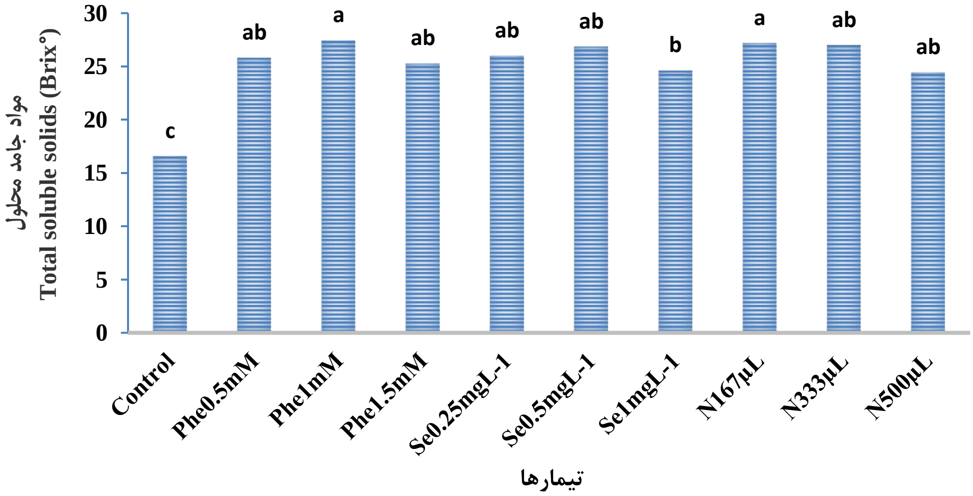
اسید قابل تیتراسیون (TA) و مواد جامد محلول (TSS)

در بررسی نتایج مشاهده شد که افزایش در غلظت‌های فنیل‌آلانین، سلنیوم و نیتروکسین تأثیر چشمگیری در مقایسه با شرایط شاهد بر میزان اسید قابل تیتراسیون و مواد جامد محلول میوه‌های گوجی‌بری داشت. بیشترین میزان اسید قابل تیتراسیون (۰/۸۹۶ درصد) در نمونه‌های تیمارشده با نیتروکسین در غلظت ۳۳۳ مایکرولیتر به‌دست آمد که این میزان ۳۶/۷۱ درصد بیشتر از میزان آن در شرایط شاهد بود (شکل ۱). همچنین نتایج نشان داد که بیشترین میزان مواد جامد محلول (۲۷/۵ درجه بریکس) در نمونه‌های تیمارشده با نیتروکسین در غلظت ۱۶۶ مایکرولیتر به‌دست آمد که ۳۹/۰۱ درصد بیشتر از میزان مواد جامد محلول در شرایط شاهد بود (شکل ۲).



شکل ۱- تغییرات اسید قابل تیتراسیون طی شرایط استفاده از غلظت‌های مختلف فنیل‌آلانین، سلنیوم و نیتروکسین در میوه‌های گوجی بری

Figure 1- Titratable acidity changes under the conditions of using different concentrations of phenylalanine (Phe), selenium (Se) and nitroxine (N) in matrimony vine fruit (DMRT, $p \leq 0.05$)



شکل ۲- تغییرات مواد جامد محلول کل طی شرایط استفاده از غلظت‌های مختلف فنیل‌آلانین، سلنیوم و نیتروکسین در میوه‌های گوجی بری

Figure 2- Changes in total soluble solids under the conditions of using different concentrations of phenylalanine (Phe), selenium (Se) and nitroxine (N) in matrimony vine fruit (DMRT, $p \leq 0.05$)

آنتوسیانین

میزان آنتوسیانین با افزایش میزان غلظت سلنیوم روندی کاهشی داشت، این درحالی بود که میزان آنتوسیانین میوه با افزایش غلظت‌های نیتروکسین و فنیل‌آلانین روندی افزایشی داشت، به‌طوری‌که بیشترین میزان (۱۸/۵۶ میلی‌گرم در گرم) این شاخص در میوه‌های تیمارشده با فنیل‌آلانین (در غلظت ۱/۵ میلی‌مولار به‌دست آمد که این میزان ۵۰/۱۵۵ درصد بیشتر از میزان این شاخص در میوه‌های شاهد به‌دست آمد (شکل ۳).

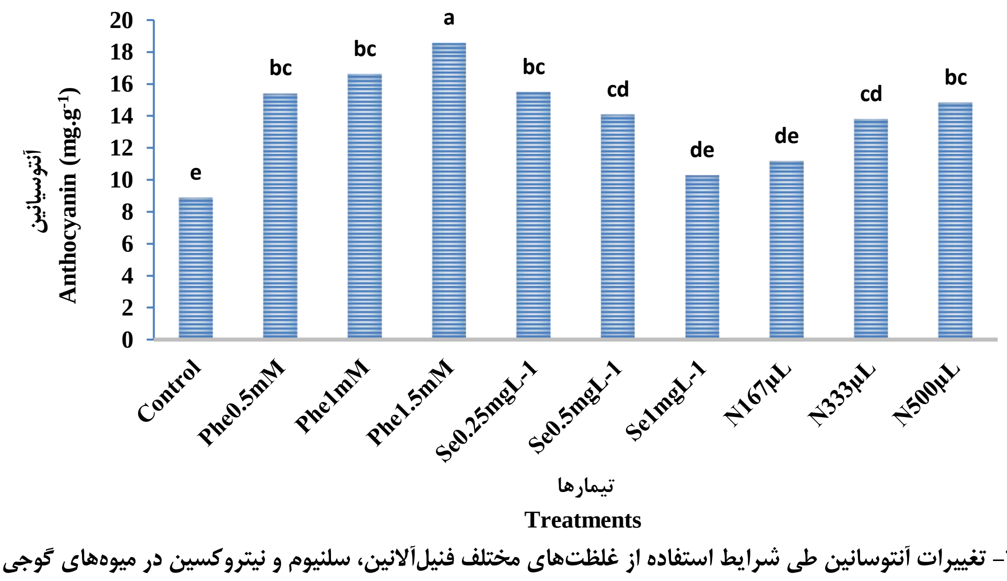
فنول و فلاونوئید میوه

در بررسی اثرات محلول‌پاشی غلظت‌های مختلف فنیل‌آلانین، سلنیوم و نیتروکسین بر میزان فنول و فلاونوئید کل مشاهده شد که همچون آنتوسیانین، افزایش غلظت سلنیوم سبب کاهش میزان فلاونوئید کل در میوه‌های گوجی بری شده است. این در حالی بود که افزایش در میزان نیتروکسین (در تمامی غلظت‌ها) تأثیر افزایشی بر میزان فلاونوئید میوه‌های گوجی بری داشته است. همچنین نتایج نشان داد که غلظت ۱ میلی‌مولار فنیل‌الانین، بیشترین تأثیر را بر میزان فلاونوئید کل در میوه‌های گوجی بری داشته است. ازاین‌رو بیشترین میزان این شاخص در میوه‌های تحت تیمار فنیل‌آلانین در غلظت ۱میلی‌مولار به‌دست آمد که این شاخص ۶۱/۹۸ درصد بیشتر از میزان فلاونوئید ثبت‌شده در میوه‌های گوجی‌بری در شرایط شاهد به‌دست آمد (شکل ۴).

میزان فنول کل تحت تأثیر غلظت‌های مختلف نیتروکسین روندی افزایشی داشت، به‌طوری‌که بیشترین میزان این شاخص (۱۸/۳۴ میلی‌گرم در گرم) در میوه‌های تیمارشده با نیتروکسین در غلظت ۵۰۰ مایکرولیتر به‌دست آمد که این میزان ۴۵/۲۵۶ درصد بیشتر از میزان فنول کل به‌دست‌آمده از میوه تحت شرایط شاهد بود (شکل ۵).

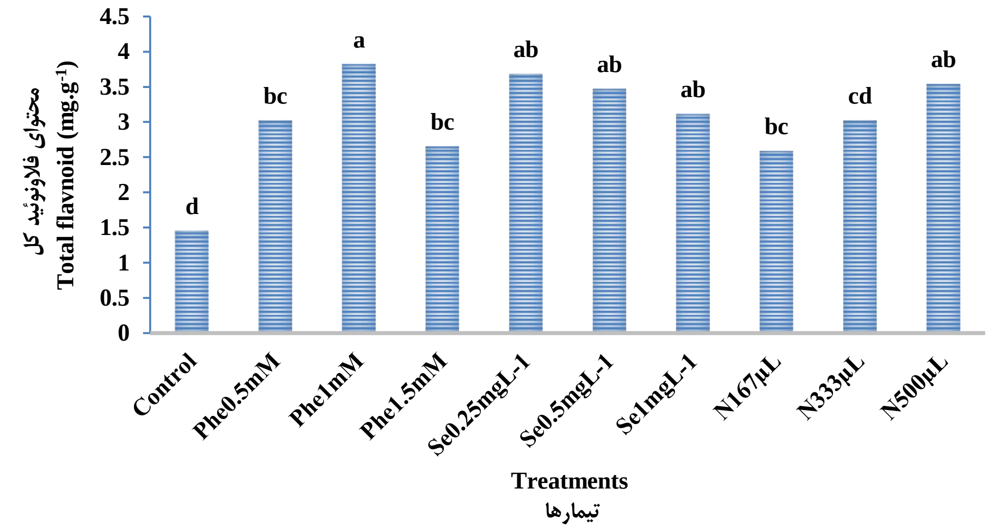
ویتامین‌ث و آنتی‌اکسیدان کل

طی بررسی نتایج مقایسه میانگین صفات مشاهده شد که میزان ویتامین ث و آنتی‌اکسیدان کل در تمامی سطوح نیتروکسین و سلنیوم و غلظت‌های ۰/۵ و ۱ میلی‌مولار فنیل‌آلانین سبب افزایش میزان این دو شاخص نسبت به شرایط شاهد شد، به‌طوری‌که بیشترین میزان آنتی‌اکسیدان کل در میوه‌های تیمارشده با نیتروکسین در غلظت ۵۰۰ مایکرولیتر به‌دست آمد که ۳۴/۶۶ درصد بیشتر از مقدار آنتی‌اکسیدان ثبت‌شده در شرایط شاهد بود (شکل ۶). همچنین نتایج مقایسه میانگین صفات نشان داد که بیشترین میزان ویتامین ث (۸۷/۱۷ میلی‌گرم در گرم) در میوه‌های تحت تیمار نیتروکسین در غلظت ۳۳۳ مایکرولیتر به‌دست آمد که ۲۰/۹۸ درصد بیشتر از میزان ویتامین‌ث به‌دست‌آمده از میوه‌های رشدیافته در شرایط شاهد بود (شکل ۷).



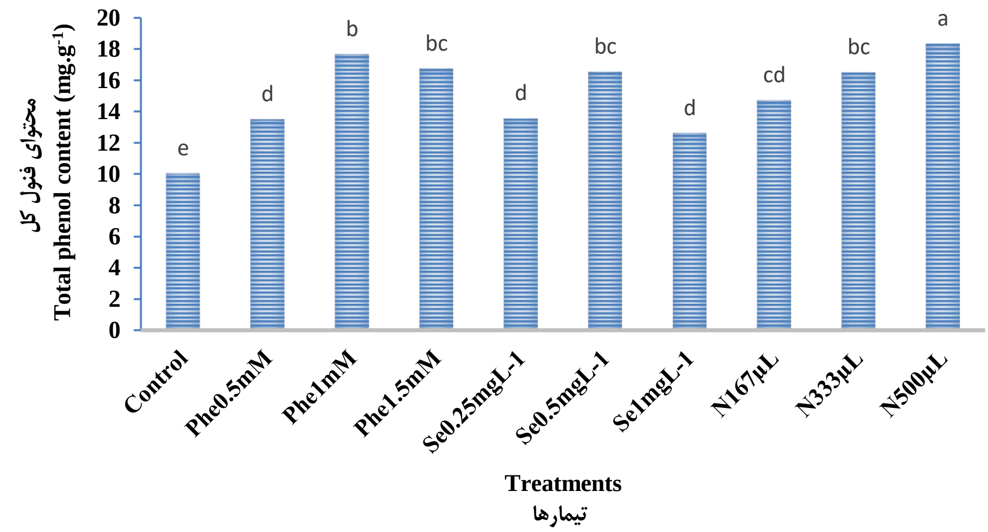
شکل ۳- تغییرات آنتوسانین طی شرایط استفاده از غلظت‌های مختلف فنیل‌آلانین، سلنیوم و نیتروکسین در میوه‌های گوجی بری

Figure 3- The anthocyanin changes under the conditions of using different concentrations of phenylalanine (Phe), selenium (Se) and nitroxine (N) in matrimony vine fruit (DMRT, $p \leq 0.05$)



شکل ٤- تغییرات فلاونوئید کل طی شرایط استفاده از غلظت‌های مختلف فنیل‌آلانین، سلنیوم و نیتروکسین در میوه‌های گوجی بری

Figure 4- Total flavonoid changes under conditions of using different concentrations of phenylalanine(Phe), selenium (Se) and nitroxine (N) in matrimony vine fruit (DMRT, *p≤0.05*)

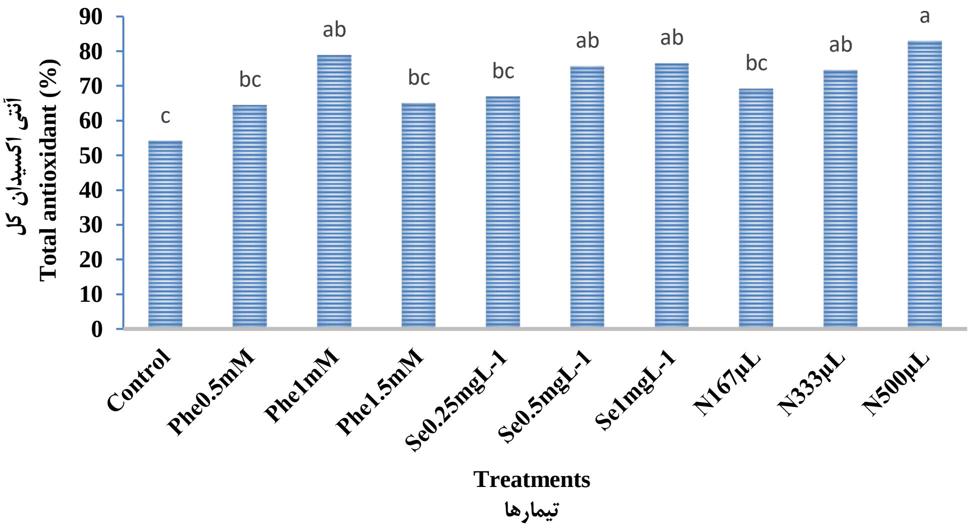


شکل ۵- میزان تغییرات محتوای فنول کل طی شرایط استفاده از غلظت‌های مختلف فنیل‌آلانین، سلنیوم و نیتروکسین در میوه‌های گوجی بری

Figure 5- Changes in total phenol content under conditions of using different concentrations of phenylalanine(Phe), selenium (Se) and nitroxine (N) in matrimony vine fruit (DMRT, *p≤0.05*)

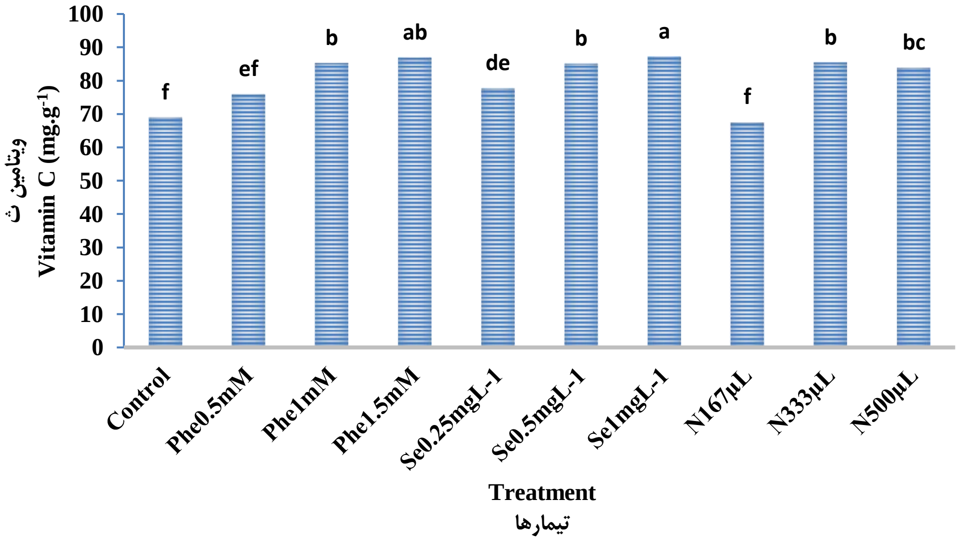
فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز (PAL)

در بررسی نتایج مقایسه میانگین اثرات تیمارهای مورد استفاده بر میزان فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز مشاهده شد که میزان فعالیت این آنزیم تحت تأثیر غلظت‌های مختلف نیتروکسین، فنیل‌آلانین و سلنیوم نسبت به شرایط شاهد روندی افزایشی داشت (شکل ۸). همچنین نتایج نشان داد که با وجود کاهش فعالیت آنزیم پلی‌فنول اکسیداز طی افزایش غلظت سلنیوم، فعالیت این آنزیم طی شرایط استفاده از سلنیوم در غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر، ۱۳/۶۶ درصد بیشتر از فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز در شرایط شاهد بود. از طرفی دیگر، بیشترین میزان فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیداز در شرایط استفاده از فنیل‌آلانین در غلظت ۱/۵ میلی‌مولار به‌دست آمد که ۵۲/۱۷ درصد بیشتر از میزان فعالیت آنزیم پلی‌فنول‌اکسیدار ثبت‌شده در شرایط شاهد بود (شکل ۸).



شکل ٦- تغییرات آنتی‌اکسیدان کل طی شرایط استفاده از غلظت‌های مختلف فنیل‌آلانین، سلنیوم و نیتروکسین در میوه‌های گوجی بری

Figure 6- Total antioxidant changes under conditions of using different concentrations of phenylalanine Phe), selenium (Se) and nitroxine (N) in matrimony vine fruit (DMRT, *p≤0.05*)



شکل ۷- تغییرات ویتامین‌ث طی شرایط استفاده از غلظت‌های مختلف فنیل‌آلانین، سلنیوم و نیتروکسین در میوه‌های گوجی بری

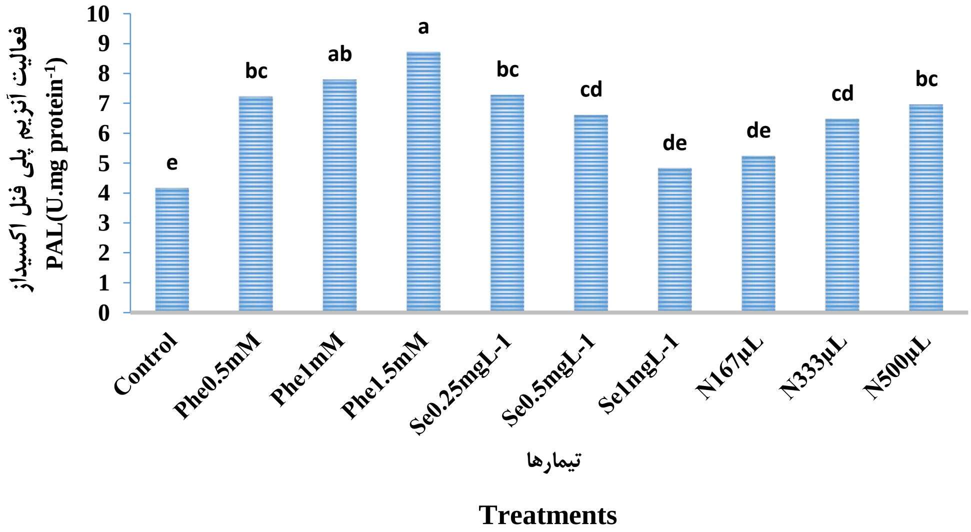
Figure 7- Vitamin C changes under the conditions of using different concentrations of phenylalanine Phe), selenium (Se) and nitroxine (N) in matrimony vine fruit (DMRT, *p≤0.05*)

بحث

بهبود کارآیی عملکرد سیستم آنتی‌اکسیدانی توسط پتانسیل آنتی‌اکسیدانی کل مشخص می‌شود که از طریق سطح اجزاء مولکولی پایین و فعالیت‌های آن کنترل می‌شود. آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی ترکیباتی مانند اسید آسکوربیک، گلوتاتیون، توکوفرول، کاروتنوئیدها، آنتوسیانین‌ها، فنول‌ها، فلاونوئیدها و آلکالوئیدها آنتی‌اکسیدان‌های مولکولی هستند (Radyuk *et al.*, 2009). کودهای زیستی شامل نیتروکسین، سوپرنیتروپلاس، کود فسفاته و میکوریزا می‌باشند که حاوی بسیاری از ریزمغذی‌ها می‌باشند. نیتروکسین، نیتروژن هوا را تثبیت و جذب عناصر ماکرو و میکرو را در گیاه متعادل می‌کند. در مطالعات قبلی بیان شده است که نیتروکسین مسئول ترشح اسیدهای آمینه و آنتی‌بیوتیک‌ها، هیدروژن سیانید و سیدروفور است و همچنین باعث رشدونمو ریشه‌ها و اندام‌های هوایی گیاه می‌گردد و از ریشه‌ها در برابر عوامل بیماری‌زا محافظت می‌کند، در نتیجه عملکرد را افزایش می‌دهد (Fahramand & Mobasser, 2013). نتایج تحقیق زاهدیان و همکاران (Zahedyan *et al.*, 2022) نشان داد که

بیشترین مقدار کلروفیل کل (۱/۸۴ میلی‌گرم در گرم وزن تر) با نیتروکسین مشاهده شد. استفاده از غلظت‌های نیتروکسین در کرفس عراقی و کرفس ایرانی نیز به‌طور معنی‌داری محتوای کلروفیل گیاه را نسبت به شاهد افزایش داد (Dahham, 2021).

در گیاهان محلول‌پاشی‌شده با سلنیوم، افزایش کربوهیدرات‌های غیرساختاری ممکن است به تثبیت CO_2 بیشتر در نتیجه افزایش رسانایی روزنه‌ای نسبت داده شود. سازوکار احتمالی دیگر، فعال شدن آنزیم‌های کلیدی درگیر در جذب CO_2 است (Hajiboland *et al.*, 2015). توراکاینان و همکاران (Turakainen *et al.*, 2004) اثر مثبت سلنیوم را در افزایش میزان کربوهیدرات‌ها در سیب‌زمینی (*Solanum tuberosum*) نشان دادند، براساس نتایج آن‌ها مصرف بیشتر سلنیوم (۰/۳ میلی‌گرم در کیلوگرم) تجمع کربوهیدرات‌ها را در ریشه‌ها و استولون‌ها افزایش داد که نشان می‌دهد، سلنیوم ممکن است تجمع کربوهیدرات‌ها یا فرآیندهای مرتبط با پیری را در ریشه و استولون سیب‌زمینی به تأخیر بیاندازد. افزایش غلظت کربوهیدرات در استولون‌ها ممکن است نشان‌دهنده این باشد که استولون‌ها هنوز فعال هستند یا اینکه برای ذخیره کربوهیدرات استفاده می‌شوند. افزایش در کل قندهای محلول پس از استفاده از سلنیوم مربوط به افزایش فعالیت فروکتوز ۱،۶- بیس فسفاتاز، آنزیم کلیدی در متابولیسم کربوهیدرات است، همان‌طور که برای یونجه نیز مشاهده شد (Owusu-Sekyere *et al.*, 2013).



شکل ۸- فعالیت آنزیم پلی فنول اکسیداز طی شرایط استفاده از غلظت‌های مختلف فنیل‌آلانین، سلنیوم و نیتروکسین در میوه‌های گوجی بری

Figure 8- PAL enzyme activity under conditions of using different concentrations of phenylalanine Phe), selenium (Se) and nitroxine (N) in matrimony vine fruit (DMRT, $p \leq 0.05$)

اسید آمینه فنیل‌آلانین به‌عنوان پیش‌سازی برای مجموعه بزرگی از متابولیت‌های ثانویه متعدد، از جمله فنیل پروپانوئیدها، فلاونوئیدها، لیگنین دیواره سلولی، آنتوسیانین‌ها و متابولیت‌های متعدد دیگر عمل می‌کند (Tzin & Galili, 2010). در تحقیقات گذشته، گزارش شده است که افزودن فنیل‌آلانین به‌صورت محلول‌پاشی روی انگور (*Vitis vinifera*) بر متابولیسم فنولی آن تأثیر می‌گذارد (Chassy *et al.*, 2012). با توجه به نتایج تحقیقات پورتو و همکاران (Portu *et al.*, 2015)، محلول‌پاشی اسیدهای آمینه مانند L- فنیل‌آلانین در طول رشد گیاه باعث افزایش محتوای آنتوسیانین‌ها و ترکیبات فنولی در گریپ فروت (*Citrus paradisi*) شد. علاوه‌براین، نتایج این تحقیق با نتایج پاک‌کیش و محمدرضاخانی (Pakkish & Mohammadrezakhani, 2021) مطابقت دارد که دریافتند، محلول‌پاشی درختان انبه (*Mangifera indica*) با اسید آمینه آرژنین باعث افزایش آنتوسیانین، کاروتنوئیدها و فنول‌ها می‌شود. با استفاده از کودهای بیولوژیک نیتروکسین، محتوای فنول کل میوه طالبی (*Cucumis melo* L.) افزایش یافت و تفاوت معنی‌داری نسبت به شاهد نشان داد (Zahedyan *et al.*, 2022). همچنین نتایج به‌دست‌آمده از مطالعه جلیل ششبهره و همکاران (Jalil Sheshbahreh *et al.*, 2022) نشان داد که بیشترین عملکرد ترکیبات فنولی از کاربرد نیتروکسین در گل سرخارگل (*Echinacea angustifolia*) به‌دست آمد.

به‌طور کلی، کاربرد نیتروکسین باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و تجمع اسمولیت‌های سازگار در گیاه زیره سیاه (*Carum carvi*) شد و در نتیجه عملکرد بیولوژیکی آن افزایش یافت

(Merajipoor *et al*., 2020). افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها توسط وانگ و همکاران (Wang *et al*., 2019) نیز توسط کودهای بیولوژیکی برای سورگوم شیرین (*Sorghum*) گزارش شد. بدیهی است که محلول‌پاشی نیتروکسین و فنیل‌آلانین به‌طور قابل توجهی محتوای فعالیت آنتی‌اکسیدانی را در گیاهان گوجی‌بری افزایش داد و محتوای بالای فلاونوئید و فنول با فعالیت آنتی‌اکسیدانی مرتبط بود. در مطالعه قبلی، رابطه مثبت قوی بین محتوای فلاونوئید کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیان شده است که به نظر می‌رسد، این فرآیند در بسیاری از گونه‌های گیاهی وجود داشته باشد (Ghasemzadeh-Mohammadi *et al*., 2012).

نتیجه‌گیری

پژوهش حاضر با هدف مطالعه تأثیر ال- فنیل‌آلانین، سلنیوم و کود زیستی نیتروکسین بر بهبود عملکرد و متابولیت‌های ثانویه گوجی‌بری طی دو سال زراعی انجام شده است. نتایج نشان داد که استفاده از اسید آمینه ال- فنیل‌آلانین، سلنیوم و کود زیستی نیتروکسین اثرات چشمگیری روی صفات مورد بررسی طی آزمایش داشت، به¬طوری‌که استفاده از نیتروکسین در غلظت ۱۶۶ مایکرولیتر، میزان مواد جامد محلول و در غلظت ۳۳۳، اسید قابل تیتراسیون را نسبت نمونه‌های شاهد افزایش داد. در بررسی تأثیر تیمارهای آزمایش بر میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مشاهده شد که بیشترین میزان فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز در شرایط استفاده از فنیل‌آلانین در غلظت ۱/۵ میلی‌مولار به‌دست آمد که ۵۲/۱۷ درصد بیشتر از میزان فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز ثبت‌شده در شرایط شاهد بود. با توجه به نتایج حاصل از پژوهش حاضر، استفاده از غلظت‌های متوسط نیتروکسین و غلظت ۱/۵ میلی‌مولار فنیل آلانین سبب افزایش خصوصیات فیزیکوشیمیایی در میوه‌های گوجی بری نسبت به میوه-های فاقد تیمار شده است. ازاین‌رو، استفاده از نیتروکسین در غلظت ۳۳۳ مایکرولیتر و فنیل آلانین در غلظت ۱/۵ میلی‌مولار برای افزایش عملکرد در امر کشاورزی ارگانیک و پایدار می‌تواند قابل توصیه باشد.

References

1. Allahdadi, M., Raei, Y., Bahreininejad, B., Taghizadeh, A., & Narimani, S. (2020). Effects of biological fertilizers on some of the morphological and nutritional properties of globe artichoke. *Iran Agricultural Research*, *39*(2), 47-56. (in Persian with English abstract). https://doi.org/10.22099/iar.2020.35209.1372
2. Arya, S.P.N. (2000). Spectrophotometric methods for the determination of vitamin C. *Analytica Chimical Acta*, *417*, 1-14.
3. Ayala-Zavala, J.F., Wang, S.Y., Wang, C.Y., & González-Aguilar, G.A. (2004). Effect of storage temperatures on antioxidant capacity and aroma compounds in strawberry fruit. *LWT-Food Science and Technology*, *37*(7), 687-695. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2004.03.002
4. Benlloch, M., Muriach, M., Castellano, G., Sancho-Pelluz, F.J., González-García, E., Flores-Bellver, M., & Romero, F.J. (2015). Role of *Lycium barbarum* extracts in retinal diseases. In *Lycium Barbarum and Human Health*. pp. 153-178. Springer, Dordrecht.
5. Bora, P., Ragaee, S., & Abdel-Aal, E.S.M. (2019). Effect of incorporation of goji berry by-product on biochemical, physical and sensory properties of selected bakery products. *Lebensmittel-Wissenschaft and Technologie*, *112*, 108225. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.05.123
6. Chassy, A.W., Douglas, O.A., Laurie, F., & Waterhouse, A.L. (2012). Tracing phenolic biosynthesis in *Vitis vinifera* via *in situ* C-13 labeling and liquid chromatography-diode-array detector-mass spectrometer/mass spectrometer detection. *Analytica Chimica Acta*, *747*, 51-57. https://doi.org/10.1016/j.aca.2012.08.012
7. Dahham, A.A. (2021). The effect of nitroxin application and drought stress on growth and yield of two Persian and Iraqi celery populations. In IOP Conference Series: *Earth and Environmental Science, 735, 012046.* https://doi.org/10.1088/1755-1315/735/1/012046
8. Donno, D., Beccaro, G.L., Mellano, M.G., Cerutti, A.K., & Bounous, G. (2015). Goji berry fruit (*Lycium* spp.): Antioxidant compound fingerprint and bioactivity evaluation. *Journal of Functional Foods*, *18*, 1070-1085. https://doi.org/10.1016/j.jff.2014.05.020
9. Fahramand, M., & Mobasser, H. (2013). Effect of biological fertilizer on maize. *International Journal of Agriculture and Crop Sciences*, *6*(12), 784.
10. Fatchurrahman, D., Amodio, M.L., De Chiara, M.L.V., Mastrandrea, L., & Colelli, G. (2022). Characterization and postharvest behavior of goji berry (*Lycium barbarum* L.) during ripening. *Postharvest Biology and Technology*, *191*, 111975. https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2022.111975
11. FAO. (2023) FAO STAT: Crops and Livestock Products. Available online: https://www.fao.org/faostat/en/ (accessed on 3 January 2023).

12. Feiziasl, V., Jafarzadeh, J., Pala, M., & Mosavi, S.B. (2009). Determination of critical levels of micronutrients by plant response column order procedure for dryland wheat (*T. aestivum* L.) in Northwest of Iran. *International Journal of Soil Science*, *4*(1), 14-26. https://doi.org/10.3923/ijss.2009.14.26
13. Fukuda, T., Yokoyama, J., & Ohashi, H. (2001). Phylogeny and biogeography of the genus *Lycium* (Solanaceae): inferences from chloroplast DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, *19*(2), 246-258. https://doi.org/10.1006/mpev.2001.0921
14. Gao, Y., Wei, Y., Wang, Y., Gao, F., & Chen, Z. (2017). Lycium barbarum: a traditional Chinese herb and a promising anti-aging agent. *Aging and disease*, *8*(6), 778. https://doi.org/10.14336/AD.2017.0725
15. Ghasemzadeh-Mohammadi, V., Mohammadi, A., Hashemi, M., Khaksar, R., & Haratian, P. (2012). Microwave-assisted extraction and dispersive liquid–liquid microextraction followed by gas chromatography–mass spectrometry for isolation and determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in smoked fish. *Journal of Chromatography*, *1237*, 30-36. https://doi.org/10.1016/j.chroma.2012.02.078
16. Hajiboland, R., Rahmat, S., Aliasgharzad, N., & Hartikainen, H. (2015). Selenium-induced enhancement in carbohydrate metabolism in nodulated alfalfa (*Medicago sativa* L.) as related to the glutathione redox state. *Soil Science and Plant Nutrition*, *61*(4), 676-687. https://doi.org/10.1080/00380768.2015.1032181
17. Heydarnazhad, R., Ghahremani, Z., Barzegar, T., & Rabiei, V. (2019). The effects of harvesting stage and chitosan coating on quality and shelf-life of *Physalis angulata* L. *Iranian Journal of Horticultural Science*, *50*(1), 173-186. (In Persian with English abstract). (in Persian with English abstract). https://doi.org/10.22059/ijhs.2018.250863.1389
18. Jalil Sheshbahreh, M., Movahhedi Dehnavi, M., Salehi, A., & Bahreininejad, B. (2022). Nitroxin improves yield and phenol compound of purple coneflower (*Echinaceae purpurea* L.) root under different irrigation regimes. *Journal of Organic Farming of Medicinal Plants*, *1*(1), 18.
19. Kafkaletou, M., Christopoulos, M.V., Tsaniklidis, G., Papadakis, I., Ioannou, D., Tzoutzoukou, C., & Tsantili, E. (2018). Nutritional value and consumer-perceived quality of fresh goji berries (*Lycium barbarum* L. and *L. chinense* L.) from plants cultivated in Southern Europe. *Fruits*, *73*(1), 5-12. | https://doi.org/10.17660/th2018/73.1.1|©ISHS2018
20. Kader, M.A., Mian, M.H., & Hoque, M.S. (2002). Effects of *Azotobacter* inoculant on the yield and nitrogen uptake by wheat. *Journal of Biological Sciences*, *2*(4), 259-261.
21. Kaijv, M., Sheng, L., & Chao, C. (2006). Antioxidation of flavonoids of green rhizome. *Food Science*, *27*, 110-115.
22. Konarska, A. (2018). Microstructural and histochemical characteristics of *Lycium barbarum* L. fruits used in folk herbal medicine and as functional food. *Protoplasma*, *255*(6), 1839-1854.
23. Kovacs, K., Banoczi, G., Varga, A., Szabo, I., Holczinger, A., Hornyanszky, G., Zagyva, I., Paizs, C., Vertessy, B.G., & Poppe, L. (2014). Expression and properties of the highly alkalophilic phenylalanine ammonia-lyase of thermophilic *Rubrobacter xylanophilus*. *PLoS One*, *9*(1), p.e85943. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0085943
24. Krizek, D.T., Britz, S.J., & Mirecki, R.M., (1998). Inhibitory effects of ambient levels of solar UV-A and UV-B radiation on growth cv. New Leaf Fire lettuce. *Physiologia Plantarum*, *103*, 17. https://doi.org/10.1034/j.1399-3054.1998.1030101.x
25. Kubota, N., Yakushiji, H., Nishiyama, N., Mimura, H., & Shimamura, K. (2001). Phenolic contents and L-phenylalanine ammonia-lyase activity in peach fruit. *Horticultural Science*, *70*, 151-156.
26. Kulczyński, B., & Gramza-Michałowska, A. (2016). Goji berry (*Lycium barbarum*): Composition and health effects–a review. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, *66*(2), 67-75. https://doi.org/10.1515/pjfns-2015-0040
27. Luo, Q., Cai, Y., Yan, J., Sun, M., & Corke, H. (2004). Hypoglycemic and hypolipidemic effects and antioxidant activity of fruit extracts from *Lycium barbarum*. *Life Sciences*, *76*(2), 137-149. https://doi.org/10.1016/j.lfs.2004.04.056
28. Merajipoor, M., Movahhedi Dehnavi, M., Salehi, A., & Yadavi, A. (2020). Physiological responses of black cumin to chemical and biological nitrogen fertilizers under different irrigation regimes. *Journal of Agricultural Science and Technology*, *22*(4), 1023-1037.
29. Mocan, A., Moldovan, C., Zengin, G., Bender, O., Locatelli, M., Simirgiotis, M., Atalay, A., Vodnar, D.C., Rohn, S., & Crișan, G. (2018). UHPLC-QTOF-MS analysis of bioactive constituents from two Romanian goji (*Lycium barbarum* L.) berries cultivars and their antioxidant, enzyme inhibitory, and real-time cytotoxicological evaluation. *Food and Chemical Toxicology*, *115*, 414-424. https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.01.054
30. Moghimi, F., & Yousefi Rad, M. (2013). The effects of nitroxin (*Azotobacter*) usage on yield and yield components of safflower (cv.Goldasht) in the presence of EDTA. *Journal of Plant Ecophysiology*, *5*(13), 39-47.

31. Mohammadpour Vashvaei, R., Ramroudi, M., & Fakheri, B.A. (2017). Effects of drought stress and bio-fertilizer inoculation on quantitative and qualitative characteristics of Marian thistle (*Silybum marianum* L.). *Journal of Agroecology*, *9*(1), 31-49. https://doi.org/10.22067/jag.v9i1.32650
32. Navarro-Alarcon, M., & Cabrera-V.C. (2008). Selenium in food and the human body. *A Review Science of the Total Environment, 400*, 115–141. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2008.06.024
33. Oğuz, I., Oğuz, H.I., Vural, A.A., & Kafkas, N.E. (2022). Goji berry (spp.) cultivation in Turkey. In Proceedings of the Latvian Academy of Sciences. Section B. *Natural, Exact, and Applied Sciences*. 76(4), 409-416
34. Owusu-Sckyere, A., Konttuyi, J., Hajiboland, R., Rahmat, S., Aliasgharzad, M., Hartikaninen, H., & Seppanen, M.M. (2013). Influence of selenium (Se) on carbohydrate metabolism, nodulation and growth in alfalfa (*Medicago sativa* L.*). Plant and Soil*, *373*, 541–552.
35. Pakkish, Z., & Mohammadrezakhani, S. (2021). Quality characteristics and antioxidant activity of the mango (*Mangifera indica*) fruit under arginine treatment. *Journal of Plant Physiology and Breeding*, *11*(1), 63-74.
36. Pilon-Smits, E.A. (2019). On the ecology of selenium accumulation in plants. *Plants, 8*(7), 197.
37. Portu, J., Gonzalez-Arenzana, L., Hermosín-Gutiérrez, I., Santamaría, P., & GardeCerdan, T. (2015). Phenylalanine and urea foliar applications to grapevine: Effect on wine phenolic content. *Food Chemistry*, *180*, 55-63. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.02.008
38. Radyuk, M.S., Domanskaya, I.N., Shcherbakov, R.A., & Shalygo, N.V. (2009). Effect of low above-zero temperature on the content of low-molecular antioxidants and activities of antioxidant enzymes in green barley leaves. *Russian Journal of Plant Physiology, 56*, 175-180.
39. Sánchez−Moreno, C., Larrauri, J.A., & Saura-Calixto, F. (1999). Free radical scavenging capacity of selected red, rose and white wines. *Journal of the Science of Food and Agriculture, 79*, 1301-1304. https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010
40. Santamaría, P., López, R., Portu, J., González-Arenzana, L., López-Alfaro, I., & Garde-Cerdán, T. (2015*). Role of Phenylalanine in Viticulture and Enology*. Phenylalanine, Dietary, sources, functions and health effects. Nova Publisher, New York. 49-70.
41. Shah, T., Bule, M., & Niaz, K. (2019). *Goji Berry (Lycium barbarum)-A Superfood. In Nonvitamin and Nonmineral Nutritional Supplements*. Academic Press. pp. 257-264. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812491-8.00037-0
42. Singleton, V.L., & Rossi, J.A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, *16*(3), 144-158. https://doi.org/10.5344/ajev.1965.16.3.144
43. Turakainen, M., Hartikainen, H., & Seppänen, M.M. (2004). Effects of selenium treatments on potato (*Solanum tuberosum* L.) growth and concentrations of soluble sugars and starch. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *52*(17), 5378-5382. https://doi.org/10.1021/jf040077x
44. Tzin, V., & Galili, G. (2010). New insights into the shikimate and aromatic amino acids biosynthesis pathways in plants. *Molecular Plant*, *3*(6), 956-972.
45. Vessey, J.K. (2003). Plant growth promoting *Rhizobacteria* as biofertilizers. *Plant and Soil*, *255*, 571–586.
46. Vidović, B.B., Milinčić, D.D., Marčetić, M.D., Djuriš, J.D., Ilić, T.D., Kostić, A.Ž., & Pešić, M.B. (2022). Health benefits and applications of goji berries in functional food products development: A review. *Antioxidants*, *11*(2), 248.
47. Wang, F., Sun, Y., & Shi, Z. (2019). Arbuscular mycorrhiza enhances biomass production and salt tolerance of sweet sorghum. *Microorganisms*, *7*(9), 289. https://doi.org/10.3390/microorganisms7090289
48. Wang, Y., Wang, J., Chang, H., Ni, X., Tian, Y., & Qin, B. (2011). Flowering biology of *Lycium barbarum* L. NQ-2. *Bulletin of Botanical Research*, *31*(3), 330-335.
49. White, P.J., Bowen, H.C., Parmaguru, P., Fritz, M., Spracklen, W.P., Spiby, R.E., Meacham, M.C., Mead, A., Harriman, M., Trueman, L.J., & Smith, B.M. (2004). Interactions between selenium and sulphur nutrition in Arabidopsis thaliana. *Journal of Experimental Botany*, *55*(404), 1927-1937. https://doi.org/10.1093/jxb/erh192
50. Yadav, S.K., Singh, L., Singh, D., & Han, S.D. (2005). Selenium status in soil of northern districts of India. *Journal Environ Manage*, *75*(2), 129-32. https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2004.11.013
51. Zahedyan, A., Jahromi, A.A., Zakerin, A., Abdossi, V., & Torkashvand, A.M. (2022). Nitroxin bio-fertilizer improves growth parameters, physiological and biochemical attributes of cantaloupe (*Cucumis melo* L.) under water stress conditions. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, *21*(1), 8-20. https://doi.org/10.1016/j.jssas.2021.06.017
52. Zarea, M.J., Ghalavand, A., Goltapeh, E.M., Rejali, F., & Zamaniyan, M. (2009). Effects of mixed cropping, earthworms (*Pheretima* sp.), and arbuscular mycorrhizal fungi (*Glomus mosseae*) on plant yield, mycorrhizal colonization rate, soil microbial biomass, and nitrogenase activity of free-living rhizosphere bacteria. *Pedobiologia*, *52*(4), 223-235. https://doi.org/10.1016/j.pedobi.2008.10.004